

Міністерство охорони здоров'я України
Луганський державний медичний університет

Бурлака Наталія Іванівна

УДК 612.461.231

Механізми ниркового функціонального
резерву в нормі та при сулемовій нефропатії

14.03.04 – патологічна фізіологія

Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Луганськ-2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеському національному університеті ім. І.І. Мечникова МОН України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, заслужений діяч науки і техніки України, професор **Гоженко Анатолій Іванович**, Одеський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри загальної та клінічної патофізіології ім. В.В. Підвисоцького.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Непорада Каріне Степанівна**, Вищий державний навчальний заклад «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України, завідувачка кафедри медичної, біологічної та біоорганічної хімії;

доктор медичних наук, професор **Клименко Микола Олексійович**, Харківський національний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології.

Захист відбудеться “23” січня 2009 р. о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 29.600.02 при Луганському державному медичному університеті (91045, м. Луганськ, кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1г).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Луганського державного медичного університету (91045, м. Луганськ, кв. 50-річчя Оборони Луганська, 1г).

Автореферат розісланий “23” грудня 2008 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради, доцент

В.М. Шанько

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Функції нирок забезпечують стабільність найважливіших параметрів гомеостазу: постійність рН, осмолярності, концентрації Na, K, об’ємів позаклітинної рідини, крові та ін., що досягається за рахунок функціональних можливостей основних ниркових процесів: фільтрації, реабсорбції і секреції.

У здорової людини середньодобовий рівень клубочкової фільтрації досить стабільний і становить 100-120 мл/хв/1,73 м². Однак цей рівень все ж не залишається постійним на протязі доби, а змінюється у досить широких межах в залежності від прийому їжі та рідини, фізичної активності, температури тіла. Доведено, що нирки здорової людини здатні значно підвищувати швидкість клубочкової фільтрації в відповідь на різні стимули. Під гіперфільтрацією розуміють гранично високу для індивіда швидкість клубочкової фільтрації, не здатну до подальшого збільшення на стимуляцію (Кутиріна І.М. і співавт., 1992). Для досягнення граничної величини швидкості клубочкової фільтрації використовують навантажувальні тести з уведенням речовин, здатних підвищувати швидкість клубочкової фільтрації. Збільшення швидкості клубочкової фільтрації і ниркового кровообігу при підвищеному споживанні чи гострих навантаженнях білком – добре відомий феномен (Кучер А.Г. і співавт., 1998, Жук В.А., 1998, Рентц Дун Б. і співавт., 1997). Найбільш сильними стимулами підвищення швидкості клубочкової фільтрації є: навантаження м’ясним білком (Bosch J.P. et al., 1983, De Santo N.G. et al., 1995), введення амінокислот (Ter Wee P.M. et al., 1985) або ізольоване введення гліцину або аргініну, внутрішньовенне введення допаміну в малих дозах (Beuknof H.R. et al., 1985), введення глюкагону (Zuscala A. et al., 1990).

Між тим, до цього часу не встановлено, чи феномен ниркового функціонального резерву (НФР) властивий виключно людині, чи він може спостерігатись і у тварин.

Про конкретні механізми, які викликають підвищення гломерулярної фільтрації і ниркового кровообігу при збільшенні споживання білку або його дериватів, а також при навантаженнях солями відомо вкрай мало. Вважається, що введення амінокислот призводить до суттєвого зниження опору, як в аферентній, так й еферентній артеріолах при незмінних величинах внутрішньоклубочкового транскапілярного гідростатичного градієнту і коефіцієнту гломерулярної ультрафільтрації - тобто гіперфільтрація у відповідь на навантаження амінокислотами є наслідком зростання ниркового плазмообігу, пов’язаного з вазодилатацією (Рентц Дун Б. і співавт., 1997). Інша точка зору пов’язує підвищення ниркового кровообігу і швидкості клубочкової фільтрації на фоні високого вживання білку, але все ж з переважним розширенням аферентної артеріоли (Mizuri S. et al., 1988). Однак безпосередні причини зменшення тонуусу артеріол нирок не відомі.

В даний час з'явилися нові дані, які свідчать про важливу роль потужного вазодилататора – оксиду азоту – в регуляції ниркової мікроциркуляції (Гоженко А.І. і співавт., 2005, Turban S. et al., 2003), що дозволяє замислитись про її участь у розвитку гіперфільтрації і гіперперфузії після навантажень білком.

Однак методики визначення НФР, які розроблені для клінічних досліджень, є досить громіздкими і недостатньо чутливими, а тому їх використання для вивчення функції нирок за фізіологічних та патологічних умов обмежене.

Сукупність вищевикладених невирішених завдань і послужила підставою для проведення даного дослідження.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження є фрагментом планової науково-дослідної роботи Державного підприємства «Інститут медицини транспорту» за темою: «Принципи формування нефротоксичних ефектів важких металів: патогенез, методи діагностики, лікування та профілактики нефропатій» (номер державної реєстрації: 0106U004967).

Мета і завдання дослідження: вивчити основні механізми включення НФР при гомеостатичних реакціях нирок в нормі у людей та щурів, також при сулемовій нефропатії у тварин і розробити на цій підставі методики визначення НФР в експерименті та під час клінічних досліджень у людини.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені наступні завдання:

1. Дослідити НФР при навантаженнях розчинами солей: NaCl, KCl, бікарбонату Na, хлориду амонію в щурів, що знаходяться на гіпо- і гіпернатрієвому раціоні харчування.
2. Провести дослідження функції нирок при навантаженні м'ясом у людей.
3. Вивчити вплив на функцію нирок білкового препарату Protein Latvia sport nutrition з використанням технології фірми Naleso (Німеччина) у людей-добровольців.
4. Вивчити вплив на функцію нирок білкового препарату Protein у щурів.
5. Вивчити функцію нирок і НФР та виведення з сечею ендогенних нітритів у щурів при сулемовій нефропатії.
6. Вивчити функціональний стан нирок при гострій і хронічній блокаді синтезу оксиду азоту в щурів.
7. Розробити комплексну методику дослідження функціонування нирок при включенні в дію НФР із метою використання її в клінічній практиці.

Об'єкт дослідження – НФР в нормі та при патології нирок.

Предмет дослідження – функція нирок у здорових добровольців і щурів та в щурів з сулемовою нефропатією.

Методи дослідження – патофізіологічні, біохімічні, фізіологічні і статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше досліджено стан НФР при навантаженнях солями натрію у щурів, що знаходяться на гіпо- і гіпернатрієвому раціоні. Показано, що введення NaCl призводить до включення НФР.

Уперше визначений вплив на функції нирок білкового препарату Protein у щурів і людей і розроблено комплексну методику дослідження НФР з метою використання її в клінічній практиці. Показано, що за цих умов зростає клубочкова фільтрація, тобто включається НФР.

Функціональний стан нирок при хронічній блокаді синтезу оксиду азоту в щурів показав, що оксид азоту приймає участь у реалізації НФР шляхом підвищення клубочкової фільтрації.

Практичне значення отриманих результатів. Одержані результати дають кількісну та якісну характеристику функціонування нирок у щурів і людей під впливом водно-солевих і харчових навантажень. Вивчено й охарактеризовано функції нирок і процеси, що реалізують їх у інтактних і піддослідних тварин, а також у добровольців при навантаженнях білком, солями натрію і при хронічній блокаді синтезу ендогенного оксиду азоту у щурів. Розроблені високочутливі та зручні для використання методики визначення НФР у щурів та людей.

У зв'язку з цим результати експериментів можуть бути використані в діяльності наукових установ, що займаються проблемами водно-солевого обміну; для обґрунтування загальнобіологічних, фізіологічних і клінічних підходів при вивченні НФР для розробки діагностичних критеріїв при оцінці функціонального стану нирок.

Результати роботи представляють інтерес для лекційних курсів у вищих навчальних закладах при викладенні розділів нормальної і патологічної фізіології нирки.

Результати дослідження впроваджені у лекційних курсах та при проведенні практичних занять за темами: «Патофізіологія нирок», «Патофізіологія водно-сольового обміну», «Патофізіологія кисло-лужного обміну» в Одеському державному медичному університеті, Тернопільському державному медичному університеті ім. І.Я. Горбачевського, Дніпропетровській державній медичній академії, Харківському національному медичному університеті на кафедрах патологічної фізіології.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є особистою науковою працею автора. Внесок автора полягає у виборі напрямку наукової задачі, проведенні патентно-інформаційного пошуку, підготовці матеріалів до планування. Визначено обсяг і методи дослідження, проведені всі експериментальні дослідження, узагальнені отримані результати, сформульовані висновки і практичні рекомендації. Автор безпосередньо проводила усі лабораторні дослідження. Самостійно проведена статистична обробка отриманого первинного матеріалу, сформульовані основні положення і висновки. Написані всі розділи дисертації та підготовлені статті, тези до опублікування у наукових виданнях.

Апробація результатів дисертації. Основні наукові положення, висновки дисертації доповідались та обговорювались на: симпозіумі, присвяченому 75-річчю з дня народження д. мед. н., професора Е.І. Самсон (Чернівці, 1996), Пленумі правління наукового товариства патофізіологів України (Чернівці, 1998); на науковій конференції «Передові наукові розробки» (Дніпропетровськ, 2006); V міжнародній науково-практичній конференції «Динаміка наукових досліджень» (Дніпропетровськ, 2006).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано розділ в монографії, 5 наукових статей в часописах та збірках, із них 3 в журналах, які входять до переліку ВАК України, та надруковані згідно вимог, викладених в пункті 3 Постанови ВАК України за №7-05/1 від 15 січня 2003 р., та 5 тез.

Обсяг та структура дисертації. Дисертація викладена на 153 сторінках комп'ютерного тексту і складається зі вступу, п'яти розділів, висновків та списку використаних літературних джерел, ілюстрована 21 таблицею, 4 рисунками. Список використаних джерел – 271, з них українських та російськомовних – 73, іноземних – 198.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень. Експериментальна частина роботи виконана на базі кафедри фізіології людини та тварин Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова.

Функції нирок і деякі показники водно-сольового обміну, а також НФР вивчали загальноприйнятими методами в дослідах на 258 статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar масою тіла 130-180г, віком 4-6 місяців, вирощених у віварії Одеського державного медичного університету, і в дослідженнях на 25 здорових добровольцях (жінки у віці 18-23 роки).

Всі тварини до і після відтворення експериментальних моделей знаходились в умовах віварію на стандартному раціоні зі стабільним вмістом натрію при вільному доступі до води.

Досліди на тваринах проводили в проміжку між 15-18 годинами дня в спеціальному приміщенні при температурі 18-22 ° С, відносній вологості 40-60 % і освітленості 250 люкс. Підготовка тварин до експериментів, всі інвазивні втручання і виведення з дослідження здійснювалися відповідно до національних «Загальних етичних принципів досліджень на тваринах» (Україна, 2001), які узгоджені з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.).

З метою виключення можливого впливу на показники діяльності нирок сезонних і добових біоритмів, кожна дослідна серія щурів порівнювалася зі своїм паралельно поставленим контролем на тваринах близьких за масою тіла.

У людей дослідження функцій нирок проводили після нічного сну натщесерце в період з 8-ї до 10-ї години ранку. Всім добровольцям раціон харчування складала на основі наданих рекомендацій, за 2 години до досліджень прийом води обмежували. Всі добровольці-жінки дали письмову згоду на участь у дослідженні, про що свідчить розписка про добровільну участь в дослідженні та експертний висновок з питань біоетики.

Дослідження функції нирок проведено у здорових щурів в умовах низьконатрієвої (пиття водопровідної води) і високонатрієвої (пиття розчину 0,9 % NaCl, введення 3 % NaCl) дієти, а також

при введенні хлориду амонію - 1,0 М (20 ммоль/кг), при навантаженні КСl і NaCl (20 ммоль), 3 % розчином Na бікарбонату в кількості 5 мл на 100 г м.т.

При вивченні спонтанного добового діурезу щурі знаходились в обмінних клітках із вільним доступом до рідини, годувались зерном. Збір сечі проводили за 24 години, враховували кількість випитої рідини. При дослідженнях в умовах індукованого діурезу щурам зондом вводили підігріту рідину (воду або розчин NaCl) до температури тіла (37 ° С) в кількості 5 % від маси тіла. Сечу для дослідження збирали за 2 години. Збір сечі проводили в спеціальних метаболічних клітках.

При з'ясуванні реакції нирок на гіперосмотичні стимули щурам вводили 3 % і 0,9 % розчини NaCl – 5 % від маси тіла в шлунок зі збиранням сечі за 2 години.

Для вивчення функцій нирок були проведені дослідження з різним рівнем виділення кислот та аміаку. Для активації екскреції кислот і аміаку щурам за годину до водного навантаження вводили в шлунок 1,0 М розчин хлориду амонію в дозі 20 ммоль/кг маси тіла.

При дослідженні функції нирок в умовах метаболічного алкалозу щурам за 18 годин перед дослідом в шлунок вводили 3% розчин Na бікарбонату в кількості 5 мл на 100 г маси тіла. Через 18 годин в шлунок вводили 1 мл/100 г маси тіла цього ж розчину, а потім ще через годину проводили 5 % водне навантаження.

Вивчали функції нирок у здорових тварин до і після введення водного розчину сулеми (5 мг/кг маси тіла) - модель токсичної нефропатії. Дослідження проводили на протязі трьох днів після введення розчину сулеми.

НФР вивчали при білковому навантаженні у людей та тварин. Застосовувався білок Protein Latvia sport nutrition з використанням технології фірми Halesco (Німеччина). Інгрідієнти препарату: білки – 90 %, вуглеводи – 4 %, жири – 0 %, амінокислоти, соєвий ізолят або молочно-яєчний протеїн, вітамінно-мінеральний комплекс, смаковий наповнювач.

Були проведені дослідження у щурів при білковому навантаженні (0,5г і 1 г білку на 100 г маси тіла – введення в шлунок металічним зондом в розчині) у тварин.

Перед експериментом тварини знаходились тиждень на низьконатрієвій дієті (зерно і вода), а за 18 годин до проведення дослідження вони взагалі залишались без їжі. На першому етапі були задіяні 3 групи тварин: I - інтактні, II – «білкові» і III - навантаження розчином NaCl+КСl (70 ммоль/л), оскільки в кількості білку, яка вводилась, містилась аналогічна кількість цих солей. При білковому навантаженні - 0,5 г білку/100 г маси тіла тварини, розчиненого в 0,3 % води від маси тіла (1-й групі вводили воду, 3-й – розчин солей NaCl і КСl), через 0,5 години після введення збирали сечу і проводили навантаження водою 0,5 % від маси тіла всім 3-м групам. В наступні 2 години збирали сечу за кожну годину роздільно, потім – повторне навантаження водою і такий же збір сечі.

В другій серії експерименту брали участь 2 групи тварин: I – «білкова» (1 г білку/100 г маси тіла, розчиненого в 0,3 % води від маси тіла), II – введення солей Na і К аналогічного об'єму. Через 2 години після введення проводили водне навантаження обом групам тварин – 0,5 % від маси тіла. Сечу збирали спільно за перші 2 години і за 3-тю і 4-ту годину.

У людей для вивчення функції нирок та НФР доброволець з'їдав варене м'ясо із розрахунку 1,5 г білку на 1 кг маси тіла (300-500 г). Групу добровольців склали 8 практично здорових обстежених жінок віком від 18 до 23 років.

НФР визначали як міру підвищення базальної клубочкової фільтрації ($\Delta\%$ КФ) за кліренсом ендогенного креатиніну після білкової стимуляції. Аналогічно вивчали НФР після навантаження білковим препаратом Protein зі стандартною кількістю білку.

З метою вивчення впливу ендотеліального фактору релаксації – оксиду азоту (NO) – на функції нирок проводили дослідження на щурах в гострому і хронічному дослідах (на протязі 13 днів) при підшкірному введенні інгібітору NO-синтази – структурного аналогу L - аргініну (L-NWNA) з розрахунку 15 мг/кг маси тіла тварини в випадку гострого експерименту і 3 мг/кг на добу при хронічному дослідженні. Функцію нирок вивчали в умовах водного діурезу, який індукували внутрішньошлунковим введенням води – 5 % від маси тіла через одну годину після введення інгібітору.

В сечі і плазмі визначали концентрацію натрію (CNa) і калію (СК) методом полум'яної фотометрії на приладі ФПЛ-1, концентрацію креатиніну (Ccr) в пробах визначали тестами фірми

«Lachema» (Чехія), концентрацію кислот, що титруються (СТК) і аміаку (СNH₃) визначали титрометрично, водневий показний середовища (рН) – іонометричним методом.

Розраховували екскрецію креатиніну, кислот, що титруються, аміаку, білку, натрію, калію і осмотично активних речовин. Визначали швидкість клубочкової фільтрації за ендogenousним креатиніном, розраховували фільтраційну фракцію осмотично активних (ОАР) речовин і натрію, фракцію натрію, яка реабсорбується та ОАР, оцінювали інтенсивність реабсорбції ОАР і натрію в каналах. Здатність нирок очищувати позаклітинну рідину від натрію і ОАР характеризували за кліренсом натрію і ОАР. Ефективність осморегулювальної функції вивчали за кліренсом осмотично активної води: $CH_2O_{osm} = V \cdot E_{osm} / P_{osm}$, де V – діурез, E_{osm} – екскреція ОАР, P_{osm} - концентрація осмотично активних речовин у плазмі крові. Здатність нирок концентрувати і розводити сечу оцінювали за відношенням концентрації ОАР і натрію в сечі та їх концентрації у плазмі крові, за концентраційним індексом ендogenousного креатиніну, натрію і калію.

Статистичну обробку цифрових результатів дослідження проводили за загальноприйнятими методами. Вірогідність відмін між середніми значеннями визначали за критерієм Ст'юдента, оцінюючи імовірність одержаних результатів на рівні значимості не менше ніж 95 % (p≤0,05). Математичні розрахунки робили за допомогою пакету прикладних статистичних програм «Excel» на IBM PC – Р II.

Результати досліджень та їх аналіз. З метою вивчення НФР дослідження проводили на щурі лінії Wistar при навантаженні водою, а також при гіпонатрієвій дієті (пиття водопровідної води) і гіпернатрієвій дієті (пиття розчинів NaCl – 0,9 %, 3 %). Результати проведених дослідів підтвердили літературні дані про підвищення швидкості клубочкової фільтрації в умовах навантаження: виявлено підвищення кліренсу креатиніну з $372,31 \pm 41,368$ мл×кг⁻¹/2 години при навантаженні водою до $534,82 \pm 48,33$ мл×кг⁻¹/2 години при навантаженні солями (p<0,05).

Реакція нирок на введення іонів калію і хлору розвивається швидко та є досить потужною і точною, і вже через 3 години у плазмі крові основні параметри близькі до нормальних величин. Про потужність ренальних механізмів адаптації свідчить те, що за цей же період часу з сечею екскретується біля половини введеної кількості осмотично активних речовин.

Визначення НФР у здорових осіб за допомогою навантаження м'ясним білком показало зростання клубочкової фільтрації від $120 \pm 8,4$ до $150 \pm 9,3$ мл/хв.

Нами була запропонована методика визначення НФР за допомогою стандартизованого білкового препарату Protein Latvia sport nutrition. Отримані результати свідчать, що величина діурезу суттєво збільшується на протязі першої години після введенні білка і потім знижується на 2-й годині і найбільший ріст спостерігається на 3-й і 4-й годині. Після прийому білку незначно знижувався діурез і зростала концентрація калію, а концентрація натрію збільшилась в середньому у 2,3 рази (таблиця 1).

Концентрації білку і особливо кислот, що титруються, дещо зменшуються, а концентрація креатиніну навпаки збільшується. Екскреція білку дещо знижується, а екскреція калію, навпаки, зростає. Спостерігались збільшення екскреції кислот, що титруються, та натрію більш ніж у 2 рази. Разом з тим, екскреція аміаку зменшується майже в 3 рази. В цей період достовірно зростає екскреція креатиніну, скоріше за все як результат підвищення клубочкової фільтрації (КФ). Таким чином, навантаження білком призводить до збільшення виділення натрію, калію і креатиніну на фоні практично постійного діурезу. Отже, навантаження білковим препаратом Protein призводить до включення ниркового резерву.

Таблиця 1

Функція нирок у здорових добровольців до і після білкового навантаження (M±m)

Показники	До білкового навантаження, n=9	Після білкового навантаження, n=9
-----------	--------------------------------	-----------------------------------

Об'єм сечі, мл/год	162±8,0	152±8,4
Ccr, мкмоль/л	781,6±19,5	831,2±12,7*
Есr, мкмоль/год	96,2±0,05	113,3±0,087*
Сбілку, мг/л	27,708±18,0376	22,276±9,1288
Ебілку, мг	3,32±0,063	3,15±0,0324
СК, ммоль/л	40,708±1,9088	54,926±0,9448**
ЕК, ммоль	3,63±0,02	11,12±0,016***
CNa, ммоль/л	74,89±10,415	177,06±20,96
ENa, ммоль	10,03±0,097	23,35±0,156***
СТК, ммоль/л	3,016±0,1736	2,024±0,3008*
ЕТК, ммоль/год	0,181±0,0052	0,294±0,015***
CNH ₃ , ммоль/л	0,948±0,5024	0,404±0,2608
ENH ₃ , ммоль/год	0,109±0,0046	0,0432±0,004*

Примітка. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$; С – концентрація речовин; Е – екскреція речовин.

Для з'ясування можливих механізмів збільшення НФР нами досліджена екскреція з сечею нітритних і нітратних іонів. Встановлено, що збільшення екскреції креатиніну, яке спостерігається на протязі першої години після білкового навантаження, виникає на фоні достовірного росту екскреції нітритних іонів.

При вивченні екскреції нітритних і нітратних іонів протягом 4-х годин спостерігали незначне зростання екскреції нітритних іонів на 3-й і 4-й годинах про одночасному збільшенні екскреції креатиніну.

Наведені вище дані дають нам підставу для висновку про те, що НФР може бути результатом підвищення продукції оксиду азоту, можливо, у судинній системі нирок, що викликає вазодилатацію привідної артеріоли клубочків і, відповідно, викликає збільшення КФ, а підвищення екскреції NO на фоні зниження виділення аміаку свідчить про те, що окислювальне деамінування аргініну не пов'язане з процесами дезамінування амінокислот. Таким чином, запропоноване навантаження і спосіб визначення НФР дає можливість виявити НФР і є більш стандартизованим і зручним для використання у клінічних дослідженнях, ніж харчове навантаження м'ясом.

Для вирішення питання щодо ролі НФР у тварин нами проведені дослідження на щурах при навантаженні білковим препаратом Protein та NaCl, які свідчать про те, що екскреція креатиніну суттєво збільшується у щурів при білковому навантаженні. Зроблено висновок, що нирковий резерв є фізіологічною реакцією, яка характерна не тільки для людей, але і для тварин. При цьому одночасно навантаження білком збільшує не тільки швидкість клубочкової фільтрації, але підвищує й екскрецію білку, зростає також виведення калію та екскреція натрію. Тобто і структура реакції на білкове навантаження у людей та у щурів співставна.

Треба зазначити, що білкове навантаження викликає підвищення виділення з сечею у щурів також і нітритів, і нітратів, причому більше на 2-у та 3-ю годину після навантаження (таблиця 2).

Порівнювали функції нирок в умовах водного навантаження у кількості 5 % від маси тіла з навантаженням таким же об'ємом 3 % хлориду натрію. При цьому встановлено, що суттєвих відмінностей у величинах діурезу не було; тільки при введенні 3 % NaCl зростає достовірно лише відносний діурез; суттєвим було тільки збільшення виділення натрію – більше як у 30 разів, екскреція калію зростала в 5 разів, а екскреція осмотично активних речовин у 7 разів. Треба зазначити, що збільшення концентрації та екскреції натрію було в першу чергу наслідком зменшення його каналцевої реабсорбції. Хоча одночасно, судячи із змін екскреції креатиніну та при розрахунках клубочкової фільтрації у тварин, яким вводили NaCl, зростала також клубочкова фільтрація з одночасним збільшенням фільтраційного заряду натрію.

Таким чином, досліди з використанням розчинів NaCl для вивчення функції нирок у щурів у порівнянні з питною водою показали, що нирки щурів активно включаються в реакції гомеостатування позаклітинної рідини, і головним напрямком є виведення надлишку натрію. Ця реакція відноситься до термінових реакцій, які виникають в перші години і дозволяють ефективно виводити переважно на-

трій. Гомеостатичні реакції нирок базуються, в першу чергу, на зниженні канальцевої реабсорбції натрію, але суттєвим внеском є збільшення клубочкової фільтрації, тобто, за суттю справи, за рахунок включення НФР (таблиця 3).

Для вивчення можливих механізмів НФР проведені експерименти з введенням інгібітору NO-синтази і встановлено, що з 1-го по 14-й день експерименту змінюються вироблення NO та функція нирок.

Таблиця 2

Функція нирок у щурів протягом 3-х годин після навантаження білковим препаратом Protein в трьох групах (M±m).

Показники	Групи	1-а година	2-а година	3-я година
	1) інтактні n=5	2,84±0,462	5,46±0,629	4,96±0,504 p ₁₋₂ <0,01
Діурез, мл	2) «білкові» n=5		2,31±0,57 p ₁₋₂ <0,05	1,333±0,267 p ₂₋₃ <0,05
	3) «сольові» n=5	1,266±0,618	3,3±1,194	2,19±0,385 p ₁₋₃ <0,05
	інтактні	0,552±0,119	1,588±0,2621	0,676±0,087 p ₁₋₂ <0,001
Екскреція NO ₂ ⁻ , мкМоль	«білкові»		0,7433±0,14	18,85±3,081 p ₂₋₃ <0,001
	«сольові»	1,242±0,4	1,250±0,794	1,144±0,835
	інтактні	1,217±0,241	2,677±0,143 p ₁₋₂ <0,001	2,288±0,256
Екскреція NO ₃ ⁻ , мкМоль	«білкові»		1,042±0,274 p ₂₋₃ <0,05	3,82±3,581
	«сольові»	4,562±1,787	3,013±0,51	2,164±0,265
	інтактні	0,0098±0,001	0,0096±0,0003	0,0122±0,003
Екскреція Cr, мкМоль	«білкові»		0,0101±0,001	0,0551±0,046
	«сольові»	0,0061±0,001 p ₁₋₃ <0,05	0,0056±0,0016 p ₁₋₃ <0,05	0,0085±0,001
	інтактні	1,239±0,194	1,247±0,243	1,029±0,1181
Екскреція білку, мкМоль	«білкові»		1,525±0,446	2,0358±0,569
	«сольові»	0,766±0,2778	0,976±0,188	2,571±0,935
	інтактні	0,193±0,0079	0,180±0,0202 p ₁₋₂ <0,01	0,164±0,0362 p ₁₋₂ <0,01
Екскреція K, мкМоль	«білкові»		1,102±0,31 p ₂₋₃ =0,05	0,453±0,030
	«сольові»	0,4256±0,155	0,409±0,128	0,777±0,211 p ₁₋₃ <0,05
	інтактні	0,0218±0,011	0,032±0,0106 p ₁₋₂ <0,05	0,0358±0,014
Екскреція Na ⁺ , мкМоль	«білкові»		0,138±0,051	0,0463±0,02
	«сольові»	0,0132±0,008	0,043±0,0161	0,2412±0,197

Примітка. p₁₋₂ - ступінь вірогідності відмінностей показників між першою і другою групами, p₁₋₃ - між першою і третьою групами; p₂₋₃ - між другою і третьою групами.

Таблиця 3

Діурез, екскреція креатиніну, натрію, калію, осмотично активних речовин у щурів при гіпергідратації і сольовому діурезі за 2 години (навантаження 3 % розчином NaCl) (M±m)

Показники	Водне навантаження 5 % від маси тіла, n=17	Навантаження 3 % розчином NaCl 5% від маси тіла, n=16
Діурез, мл	7,17±0,732	7,488±0,712
Відносний діурез, %	68,19±6,02	81,79±3,241*
С креатиніну, ммоль/л	0,579±0,0442	0,591±0,064
Е креатиніну, мкмоль	20,83±2,901	28,7±3,042*
СNa, ммоль/л	16,46±4,260	324,109±13,09***
ENa, мкмоль	367,79±73,132	12442,93±1430,092***
СК, ммоль/л	12,54±0,57	57,47±5,435***
ЕК, мкмоль/кг	425,08±41,11	2099,3±163,08***
СОАР, мосм/л	134,21±18,45	817,5±45,42***
ЕОАР, мосм	4,087±0,563	30,15±2,012***

Примітка. * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$; С – концентрація речовин; Е – екскреція речовин.

Зміни функцій нирок реалізуються на рівні канальцевої реабсорбції та активації секреції, не залежать від пошкодження нирок і пов'язані зі змінами регуляції з боку NO. Можливо, зменшення продукції NO в ендотелії викликає звуження судин та зменшення внутрішньосудинного об'єму. Закономірною реакцією при цьому є збільшення екскреції натрію внаслідок включення волюморегуляторної системи.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведене теоретичне узагальнення і нове вирішення конкретного наукового завдання, яке полягає у вивченні основних механізмів включення НФР у людей та щурів при гомеостатичних реакціях та при сулемовій нефропатії у щурів.

1. Реакція нирок на водне і сольове навантаження в залежності від вмісту натрію в раціоні харчування свідчить про те, що в організмі щурів формуються стійкі пристосувальні реакції, спрямовані на регуляцію гомеостазу, в яких важлива роль належить НФР. НФР є провідним фізіологічним механізмом, який визначає потужність адаптаційних реакцій нирок по регуляції водно-сольового гомеостазу, тоді як специфічність та точність регуляції забезпечується за рахунок канальцевої реабсорбції та секреції.

2. Навантаження м'ясним білком (1,5 г на 1 кг маси тіла) у здорових людей супроводжується включенням НФР за кліренсом ендogenous креатиніну одночасно зі збільшенням екскреції натрію та ендogenous нітрів.

3. Навантаження білковим препаратом Protein у добровольців приводить до включення ниркового резерву одночасно з підвищенням екскреції натрію і калію на фоні стабільної протеїнурії. Запропоноване навантаження білковим препаратом Protein і спосіб визначення НФР шляхом сольового та водного навантаження у щурів, що знаходяться на гіпо- та гіпернатрієвих раціонах харчування, дають можливість виявити стан НФР і є більш стандартизованими і зручними методиками, оптимальними для використання в експериментальних та клінічних дослідженнях.

4. Порушення ниркової функції після введення сулеми виникають вже в перші години експерименту та супроводжуються зменшенням клубочкової фільтрації. В свою чергу, це дозволяє вважати, що зменшення НФР є одним з механізмів порушення функції нирок.

5. Реакція нирок у щурів на введення надлишку іонів калію і хлору розвивається швидко, є досить потужною і точною, так як уже через 3 години у плазмі крові основні параметри цих іонів близькі до нормальних величин, а з сечею екскретується біля половини введеної кількості осмотично активних речовин.

6. Введення шурам блокатора ендотеліальної NO-синтази (гостра і хронічна блокада) супроводжується зменшенням екскреції креатиніну та ниркового резерву одночасно з підвищенням екскреції натрію, що поряд із змінами екскреції нітритів при сольових та білкових навантаженнях, в нормі та при сулемовій нефропатії, свідчить про важливу роль синтезу оксиду азоту нирками у механізмах реалізації резерву. При патології нирок НФР зумовлює компенсаторні реакції нирок та є одним з важливих критеріїв розвитку і перебігу ниркових хвороб.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гоженко А.І., Конкін С.І., Федорук О.С., Куксань Н.І., Коротаєва О.В. Взаємозв'язок енергетичного обміну ниркових процесів і функцій нирок в нормі та патології // Деп. В ДНТБ України 04.04.1997, № 307 – Ук. 97. - Одеса. - 1997. – 70 с.
2. Гоженко А.І., Куксань Н.І., Погоріла І.В. Функціональний стан нирок при хронічній блокаді синтезу оксиду азоту в щурів // Медична хімія. – 2002. – Т. 4. – № 4. – С.65-68.
3. Бурлака Н.И. Адаптационные изменения функционального состояния почек у крыс в зависимости от содержания натрия в рацион // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2007. – Т. 2. – № 2. – С. 21-23.
4. Бурлака Н.И. Состояние почечного резерва у крыс при введении раствора сулемы в зависимости от натриевого баланса в организме // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2007. – Т. 2. – № 3. – С. 15-18.
5. Гоженко А.И., Куксань Н.И., Гоженко Е.А. Методика определения почечного функционального резерва у человека // Нефрология. – 2001. – Т. 5. – № 4. – С.70-73.
6. Гоженко А.І., Котюжинська С.Г., Бурлака Н.І., Слученко О.М. Нирковий функціональний резерв при хронічних токсичних нефропатіях // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2007. – № 1(7). – С.131-134.
7. Доренский В.С., Славина Н.Г., Куксань Н.И., Спитчак М.Н. Скорость транспорта натрия, калия и воды в перфузированной петле тонкой кишки при действии нитрита натрия и фенольных пигментов винограда // Матеріали симпозиуму «Актуальні питання реабілітації гастроентерологічних хворих». – Чернівці, 1996. – С.132.
8. Гоженко А.И., Славина Н.Г., Федорук А.С., Котюжинский А.Л., Котюжинская С.Г., Куксань Н.И. Роль NO в физиологии и патологии. Сообщение I. Определение нитратной экологической нагрузки на организм человека // Вісник морської медицини. – 1997. – №1. – С.14-15.
9. Гоженко А.І., Куксань Н.І., Котюжинський А.Л., Котюжинська С.Г., Федорук О.С., Савицький І.В. Функціональний стан нирок при блокаді синтезу NO у щурів // Фізіологічний журнал. – 1998. – Т. 44. – № 3. – С. 135.
10. Бобилев О.В., Білецький С.В., Федорук О.С., Котюжинський А.Л., Котюжинська С.Г., Куксань Н.І. Вплив гіпоксично-гіперкапнічного середовища на функцію нирок у щурів // Фізіологічний журнал. – 1998. – Т. 44. – № 3. – С. 133.
11. Бурлака Н.И., Гоженко А.И., Педанов Ю.Ф. Адаптационные изменения функционального состояния нирок у щурів в залежності від вмісту натрію в раціоні // Матеріали V міжнародної науково-практичної конференції «Динаміка наукових досліджень – 2006». – Дніпропетровськ, 2006. – С.43-46.
12. Бурлака Н.И. Механізми ниркового функціонального резерву у щурів при білковому навантаженні // Матеріали наукової конференції «Передовые научные разработки – 2006». – Дніпропетровськ, 2006. – С. 13-14.

АНОТАЦІЯ

Бурлака Н.И. Механізми ниркового функціонального резерву в нормі та при сулемовій нефропатії. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Луганський державний медичний університет. – Луганськ, 2008.

Досліджена особливість функціональної відповіді нирок на навантаження солями натрію, калію у щурів, що знаходились на гіпо- та гіпернатрієвому раціоні, а також при навантаженні м'ясним білком у людей з ресстрацією ниркового функціонального резерву. Показано, що у здорових людей після вживання білку змінюється величина діурезу, екскреції креатиніну, калію, аміаку, кислот, що титру-

ються, нітратів, нітритів та їх концентрацій. Запропоноване навантаження викликає збільшення кліренсу ендогенного креатиніну, що є наслідком включення ниркового резерву. Хронічна блокада синтезу оксиду азоту у щурів порушує функціональний стан нирок та блокаду ниркового функціонального резерву. Запропоновані методики рекомендуються для використання в фізіологічних і клінічних дослідженнях функції нирок.

Ключові слова: нирковий функціональний резерв, оксид азоту, клубочкова фільтрація, білкове навантаження, канальцева реабсорбція.

АННОТАЦІЯ

Бурлака Н.И. Механизмы почечного функционального резерва в норме и при сулемовой нефропатии. – Рукопись.

Диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Луганский государственный медицинский университет. – Луганск, 2008.

Исследована особенность функционального ответа почек на нагрузку солями натрия, калия у крыс, которые находились на гипо- та гипернатриевом рационе, а также при нагрузке мясным белком у человека, получены данные о включении почечного функционального резерва.

С целью изучения почечного функционального резерва проведены исследования реакции почек на белковый препарат Protein Latvia sport, полученный с использованием технологии фирмы Haleco (Германия) (нагрузка составила количество 1,5 г белка на 1 кг массы тела) в условиях спонтанного и водного диуреза, вызванного водной нагрузкой – 0,5 % от массы тела.

Показано, что у здоровых лиц после приема белка изменяется величина диуреза, экскреции креатинина, калия, аммиака, титруемых кислот, нитратов, нитритов и их концентрации. Следовательно, в условиях потребления стандартного количества белкового препарата мы четко наблюдали повышение на 30-40 % от исходного уровня клубочковой фильтрации. При этом увеличение употребления белка не приводило к существенному росту объема мочи и экскреции белка. Одновременно вдвое возрастала экскреция калия, больше, чем вдвое – натрия, титруемых кислот на фоне уменьшения выделения аммиака. Следовательно, как и в случае исследований при нагрузке мясом, выявляется 2 типа эффектов на уровне клубочков и на уровне канальцев. При этом общим является увеличение фильтрации и увеличение экскреции названных веществ, что за исключением титруемых кислот, является следствием уменьшения канальцевой реабсорбции.

Предложенная нагрузка вызывает увеличение клиренса креатинина, что является следствием включения почечного резерва.

Хроническая блокада синтеза окиси азота у крыс нарушает функциональное состояние почек и блокаду почечного функционального резерва. Предлагаемые методики рекомендуются для использования в физиологических и клинических исследованиях функции почек.

Ключевые слова: почечный функциональный резерв, окись азота, клубочковая фильтрация, белковая нагрузка, канальцевая реабсорбция.

ABSTRACT

Burlaka N.I. Mechanisms of renal functional reserve in the norm and at toxic nephropathy. – The manuscript.

The dissertation on obtaining of scientific degree of the candidate of biological sciences on specialty 14.03.04 – Pathological Physiology. – Lugansk State Medical University. – Lugansk, 2008.

The peculiarities of renal functional answer were investigated by load with sodium and potassium salts in rats that had the diet with decreased and increased sodium content, and also by load with meat for practically healthy people with registration of renal functional reserve. It was shown that healthy subjects after protein load had changed values of diuresis, excretion of creatine, potassium, ammonia, titrated acids, nitrates, nitrites and their concentrations. Thus the proposed loading causes the increase of creatine excretion that is the consequence of renal reserve activation. The chronic blockade of nitric oxide synthesis in rats disturbs the functional state of kidneys and blockade of renal functional reserve. The proposed methods are recommended for the use in physiology and clinical researches of renal function.

Keywords: renal functional reserve, nitric oxide, glomerular filtration, protein load and tubular reabsorbtion.

Підписано до друку “01” грудня 2008 р. Формат 60*90/16. Папір для писання.

Умовних. друк. арк. 0,71. Наклад 100 прим. Замовлення № 47. Безкоштовно.

ПП Гайдаш І.С., Україна, 91007, Луганськ, вул. Привізна, 47а.